MDR1和CYP3A5基因多态性对伊马替尼治疗慢性骨髓性白血病预后的影响

何 瑛,糟秀梅,魏学花
银川市第一人民医院血液内科,宁夏 银川 750001

摘要:目的 研究MDR1和CYP3A5基因多态性对伊马替尼治疗慢性骨髓性白血病(CML)预后的影响。**方法** 选择100例采用伊马替尼治疗的慢性骨髓性白血病患者作为研究对象,其中50例细胞遗传学复发患者作为研究组,另外50例无复发患者作为对照组,随访45个月。分析MDR1基因中的C1236T、C3435T、G2677T/A和CYP3A5基因中的A6986G位点的单核苷酸多态性与细胞遗传学复发风险之间的关系。**结果** MDR1-C1236T与MDR1-C3435T多态性位点中CC基因型细胞遗传学复发的风险均明显比CT+TT基因型患者高(P<0.05)。MDR1-C3435T和MDR1-C1236T多态性位点的TT基因型患者的无复发生存时间中位数显著高于CC基因型和CT基因型,差异均有统计学意义(P<0.05)。研究组患者中血液毒性和中性白细胞减少症的发生率明显比对照组患者高,差异有统计学意义(P<0.05)。MDR1-C3435T基因型和伊马替尼谷浓度是细胞遗传学复发的独立预测因子。**结论** MDR1基因的C1236T和C3435T位点多态性和伊马替尼谷浓度水平显著影响CML细胞遗传学复发的风险。MDR1-C3435T基因型可用于预测CML患者细胞遗传学复发风险的潜在生物标志物。
关键词:伊马替尼;慢性骨髓性白血病;单核苷酸多态性;细胞遗传学复发

Effect of MDR1 and CYP3A5 gene polymorphisms on outcomes of patients receiving imatinib treatment for chronic myeloid leukemia

HE Ying, ZAO Xiumei, WEI Xuehua
Department of Hematology, First People's Hospital of Yinchuan, Yinchuan 750001, China

Abstract: Objective To study the effect of MDR1 and CYP3A5 gene polymorphisms on the outcomes of imatinib treatment in patients with chronic myeloid leukemia (CML). **Methods** A total of 100 patients with CML treated with imatinib were enrolled in this study, including 50 patients with cytogenetic relapse (study group) and 50 without cytogenetic relapse (control group) during the follow-up for 45 months. For all the patients, single nucleotide polymorphisms (SNPs) of C1236T, C3435T, and G2677T/A loci in the MDR1 gene and A6986G locus in CYP3A5 gene were genotyped and the trough levels of imatinib was measured using LC-MS/MS. The relationship between SNPs of the loci and the risk of cytogenetic relapse were analyzed. **Results** The risk of cytogenetic recurrence was significantly higher in patients with CC genotypes of MDR1-C1236T and MDR1-C3435T than in those with CT + TT genotypes (P<0.05). The median survival time of the patients with TT genotypes of MDR1-C3435T and MDR1-C1236T was significantly higher than that of patients with CC genotypes and CT genotypes (P<0.05). The incidences of hematologic toxicity and neutropenia were significantly higher in patients with cytogenetic relapse than in those without cytogenetic relapse (P<0.05). MDR1-C3435T genotype and imatinib concentration were independent predictors of cytogenetic relapse of CML. **Conclusion** The risk of cytogenetic relapse of CML was significantly affected by SNPs of C1236T and C3435T loci of MDR1 gene and blood imatinib concentration. MDR1-C3435T genotype can be used as a potential biomarker for predicting cytogenetic relapse in CML patients.
Keywords: imatinib; chronic myeloid leukemia; single nucleotide polymorphisms; cytogenetic relapse

慢性骨髓性白血病(CML)是造血干细胞的骨髓增生性肿瘤,其特征在于费城染色体的存在导致9和22号染色体时间发生异位[1],形成BCR-ABL1融合基因,该基因编码BCR-ABL1融合蛋白(p210),p210蛋白具有酪氨酸激酶活性并且在CML的发病机理中起重要作用[2]。具有酪氨酸激酶抑制剂的甲磺酸伊马替尼是治疗CML的主要里程碑。伊马替尼是治疗CML的一线药物,其作用机制是选择性靶向BCR-ABL1融合蛋白的酪氨酸激酶结构域并阻断其磷酸化,从而阻止激酶激活和信号转导[3-4]。尽管伊马替尼具有一定的疗效,但相当一部分患者没有达到理想的治疗反应,有些患者进一步发展为具有伊马替尼抗性导致疾病复发或进展[5-6]。影响伊马替尼疗效的原因及其机制成为研究的热点之一,这也正是本研究的间接目的。有学者提出,MDR1基因的过度表达导致P-糖蛋白(Pgp)活性增加,从而降低肿瘤细胞内伊马替尼的可用性[7-8]。伊马替尼在体内可被微粒体酶CYP3A4和CYP3A5代谢为活性代谢物

CGP74588[9]。伊马替尼是Pgp的底物，Pgp是由MDR1(ABCB1)基因编码的，Pgp在伊马替尼的代谢过程中发挥重要的作用[10]。伊马替尼的代谢和运输过程中存在大量的个体间变异，这可能是由于MDR1和CYP3A5基因的遗传多态性所致[11]。MDR1和CYP3A5基因多态性可以影响肿瘤细胞内伊马替尼的利用率，进而影响治疗效率[12]。MDR1和CYP3A5基因多态性是否影响CML患者细胞遗传学复发的风险尚不清楚。本研究评估了CYP3A5和MDR1基因中遗传多态性对伊马替尼治疗CML患者细胞遗传学复发风险的影响，具体研究报告如下。

1 资料和方法

1.1 一般资料

随机选择2010年5月~2012年10月期间我院收治的采用伊马替尼治疗的慢性骨髓性白血病患者作为研究对象，随访45月。骨髓性白血病的诊断参考《慢性髓性白血病诊疗指南》[13]。纳入标准：经诊断为慢性髓性白血病；费城染色体阳性急性淋巴细胞白血病；第1次TKI停药试验后，主要分子反应(MMR)丧失；签署知情同意书。排除标准：处于急变期后加速期的患者；用伊马替尼以外的酪氨酸激酶抑制剂治疗的患者；患者服药依从性差的患者；已经停止伊马替尼治疗的患者；使用了诱导或抑制P-糖蛋白和CYP3A4/5的伴随药物(例如红霉素、克拉霉素、利福平、卡马西平、苯妥英、HIV-蛋白酶抑制剂、环孢菌素等)的患者。收集患者的基线资料，包括详细病史、全身检查结果、血清生化检测结果、肝肾功能检查结果、骨髓细胞遗传学和活检结果、细胞遗传学和分子反应的评估结果以及伊马替尼等引起的毒性情况统计结果等。从中随机选择50例发生细胞遗传学复发的患者作为研究组，另外选择50例未发生细胞遗传学复发的患者作为对照组，对照组患者随着是尽量与研究组患者的年龄、性别等资料进行匹配选择。本研究获得了我院医学伦理委员会的批准，所有患者均签署了知情同意书。

1.2 方法

所有患者均采用400 mg的伊马替尼(Novartis Pharma Stein AG，瑞士)进行治疗，按照体质量、体表面积、患者年龄、治疗反应和毒性适当改变剂量。根据NCCN指南，评估所有患者的血液反应和细胞遗传学反应，通过常规骨髓细胞遗传学评估细胞遗传学反应。完整的细胞遗传学反应(CCyR)被定义为对至少20个分裂中期细胞使用吉姆萨条带分析显示，在骨髓细胞遗传学研究中不存在费城染色体阳性细胞。细胞遗传学复发的判定采用荧光定量PCR方法，试剂盒购自上海信裕生物科技有限公司，所有操作均严格按照试剂盒说明书进行。不良事件按照“不良事件常用术语标准”(CTCAE)4.0版[13]进行分级。根据NCCN指南中提到的标准，定义需要剂量中断或减少剂量的血液毒性。P-gP的检测采用免疫组化检测，在光学显微镜下选择5个高倍镜视野对细胞计数，根据染色的颜色深度进行打分，0分表示无色，浅黄色为1分，棕黄色为2分，棕褐色为3分。同时对阳性细胞所占的百分比评分，阳性细胞数为0表示0分，阳性细胞数少于总细胞数的25%，阳性细胞数占总数的26%~50%位2分，阳性细胞数占总数的51%~75%为3分，阳性细胞数占总数的>75%为4分。最后根据染色强度与阳性细胞所占比例的百分比得分相加，0~1分表示(-)，2~3分表示(±)，4~5分表示(+)，6~7分表示(++)，其中(-)与(±)归为阴性，(+)和(++)归为阳性。

1.3 基因多态性分析

取受试者约2 mL静脉血，采用Qiagen(德国，货号51104)DNA抽提试剂盒提取基因组DNA进行基因分型检测。抽提的基因组DNA保存于−80 ℃，然后送上海桑尼生物科技有限公司对MDR1基因中的C1236T(rs1128503)、C3435T(rs1045642)和G2677T/A(rs2032582)多态性位点和CYP3A5基因中的A6986G(rs776746)位点，测序引物参考文献[14-15]。

1.4 伊马替尼谷水平检测

在伊马替尼治疗24±4 h后取受试者EDTA抗凝血送约2 mL，30 min内离心收集血浆，−80 ℃保存至检测分析，此时检测血药浓度最佳。分析方法采用高效液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)法，伊马替尼的定量下限(LOD)为4.65 ng/mL。

1.5 统计学分析

本研究中统计学分析采用SPSS20.0软件，连续分布的计量资料的表示方法为均数±标准差，使用独立t检验来比较正态分布后的连续变量，如果数据不符合正态分布，则使用Mann-Whitney U检验。同时计算绝对频率和百分比的分类数据，用卡方检验分析遗传多态性对细胞遗传学复发风险的影响。复发的患者的不同基因型的风险计算为比值比(OR)和95%置信区间(CI)。用Kaplan-Meier分析来估计不同基因型患者的无复发生存期。Log Rank检验用于比较不同基因型患者中位复发时间。采用多变量分析比较各种协变量对细胞遗传学复发风险的影响，$P<0.05$表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基线资料

两组患者的初诊年龄、性别、伊马替尼剂量、Sokal评分系统、Hasford评分系统、Eutos评分系统以及随访时间之间的差异没有统计学意义($P>0.05$)，研究组患者达到MMR的时间明显比对照组短，差异有统计学意义($P<0.05$，表1)。

表1 两组患者的基线资料

Tab.1 Baseline data of the two groups of patients

Parameter	Study group (n=50)	Control group (n=50)	χ^2/t	P
Age at diagnosis (year)	36.52±11.20	35.98±12.35	0.229	0.819
Gender (Male/Female)	25/25	27/22	0.258	0.611
Imatinib dose at CCyR (mg)			1.198	0.549
300	4(36.00%)	7(64.00%)		
400	44(51.00%)	42(49.00%)		
600	2(67.00%)	42(49.00%)		
Sokal score			2.564	0.277
Low	12 (39.00%)	19 (61.00%)		
Intermediate	26 (53.00%)	23 (47.00%)		
High	12 (60.00)	8 (40.00%)		
EUTOS score			0.219	0.640
Low	37 (49.00%)	39 (51.00%)		
High	13 (54.00%)	11 (46.00%)		
Hasford score			0.401	0.818
Low	17 (46.00%)	20 (54.00%)		
Intermediate	30 (53.00%)	27 (47.00%)		
High	3 (50.00%)	3 (50.00%)		
Attainment of MMR	11 (22.00%)	38 (76.00%)	29.172	0.000
Duration of follow-up (month)	45.94±8.52	45.75±9.14	0.108	0.915

CCyR: Complete cytogenetic response. MMR: Major molecular response.

2.2 等位基因和基因型频率

两组患者的CYP3A5-A6986G、MDR1-C1236T、MDR1-C3435T和MDR1-G2677T/A突变位点的等位基因频率符合Hardy-Weinberg平衡(P>0.05)。研究组患者与对照组患者的CYP3A5-A6986G和MDR1-G2677T/A突变位点的各基因型频率之间的差异没有统计学意义(P>0.05),而两组患者的MDR1-C1236T和MDR1-C3435T突变位点各基因型频率之间的差异有统计学意义(P<0.05)。对照组患者MDR1-C1236T和MDR1-C3435T多态性位点中的TT基因型频率明显比研究组高,差异有统计学意义(P<0.05),说明无细胞遗传学复发的患者中MDR1-C1236T和MDR1-C3435T多态性位点中的TT基因型频率更高。而研究组患者的MDR1-C1236T和MDR1-C3435T多态性位点的CC基因型频率明显比对照组高,差异有统计学意义(P<0.05),说明细胞遗传学复发患者的MDR1-C1236T和MDR1-C3435T多态性位点的CC基因型频率比无细胞遗传学复发患者高。研究组患者的伊马替尼的低谷水平明显比对照组患者低,差异有统计学意义(P<0.05,表2)。

2.3 不同基因型对应的P-gp表达情况

CYP3A5-A6986G位点和MDR1-G2677T/A位点各基因型的P-gp阳性表达率之间的差异没有统计学意义(P>0.05)。MDR1-C1236T位点和MDR1-C3435T位点C等位基因携带者(CC+CT)的P-gp阳性表达率显著高于TT基因型,差异有统计学意义(χ^2=21.183,25.978;P=0.000,0.000,表3)。

2.4 不同基因型对细胞遗传学复发的影响

MDR1-C1236T多态性患者中CC基因型细胞遗传学复发的风险明显比CT+TT基因型患者高(χ^2=5.316,P=0.021;OR=4.419,95%CI=1.151~16.967)。而MDR1-C3435T多态性患者中CC基因型细胞遗传学复发的风险比CT+TT基因型患者高(χ^2=3.843,P=0.049;OR=3.244,95%CI=0.956~11.001),TT基因型细胞遗传学复发的风险明显比CT+TT基因型患者低(χ^2=8.319,P=0.004;OR=0.291,95%CI=0.124~0.684,表4)。

2.5 不同基因型对无复发生存率的影响

本研究结果显示,MDR1-C3435T和MDR1-C1236T多态性位点的基因型对无复发生存具有显著影

表2 各组患者的基因型和伊马替尼谷浓度水平

Tab.2 Genotyping results and trough levels of imatinib in the two groups

SNPs	Genotype	Total	Study group (n=50)	Control group (n=50)	χ^2/t	P
CYP3A5-A6986G（rs776746）						
	AA	13 (13.00%)	8 (57.14%)	6 (42.86%)		
	AG	41 (41.00%)	22 (55.00%)	18 (45.00%)	1.468	0.480
	GG	46 (46.00%)	20 (43.48%)	26 (56.52%)		
MDR1-C1236T (rs1128503)						
	CC	13 (13.00%)	10 (76.92%)	3 (23.08%)		
	CT	65 (65.00%)	33 (50.00%)	33 (50.00%)	6.103	0.047
	TT	22 (22.00%)	7 (33.33%)	14 (66.67%)		
MDR1-C3435T (rs1045642)						
	CC	14 (14.00%)	11 (73.33%)	4 (26.67%)		
	CT	48 (48.00%)	26 (56.52%)	20 (43.48%)	8.383	0.015
	TT	38 (38.00%)	13 (33.33%)	26 (66.67%)		
MDR1-G2677T/A (rs2032582)						
	GG	10 (10.00%)	7 (70.00%)	3 (30.00%)		
	TA	7 (7.00%)	4 (57.14%)	3 (42.86%)		
	GA	3 (3.00%)	2 (66.67%)	1 (33.33%)	3.856	0.426
	GG	42 (42.00%)	22 (52.38%)	20 (47.62%)		
	TA	38 (38.00%)	15 (39.47%)	23 (60.52%)		
Trough levels of imatinib (ng/mL)						
			1564.31±851.65	2173.55±765.44	3.762	0.000

响，MDR1-C3435T和MDR1-C1236T多态性位点的TT基因型患者的无复发生存时间中位数显著高于CC基因型和CT基因型，差异均有统计学意义（P<0.05，表5）。

2.6 伊马替尼毒性和细胞遗传学复发

本研究中的患者产生血液毒性最常见的是伊马替尼诱导的毒性，本研究中伊马替尼诱发的毒性发生率为78%（78/100），其中血液毒性占51%，2例（2%）患血细胞减少症，46例（46%）患血小板减少症，24例（24%）患中性粒细胞减少症，3例（3%）患贫血。发生遗传学复发的患者中血液毒性（60.78% *vs* 39.22%）和中性白细胞减少症（70.83% *vs* 29.17%）的发生率明显比未发生细胞遗传学复发的患者高，差异有统计学意义（χ^2=4.842，5.482；P=0.028，0.019，表6）。

2.7 多变量分析

本研究选用MDR1-C3435T基因型（TT基因型和非TT基因型）、MDR1-C1236T基因型（CC基因型和非CC基因型）、血浆伊马替尼水平、血液毒性、诊断年龄、Sokal得分、Hasford得分和EUTOS得分，结果显示MDR1-C3435T基因型（调整后OR=0.071，95%CI=0.118~0.654，P=0.001）和伊马替尼谷浓度（调整后OR=3.851，95%CI=2.514~15.712，P=0.004）是细胞遗传学复发的独立预测因子。

3 讨论

本研究评估了MDR1和CYP3A5遗传多态性对伊马替尼治疗CML患者细胞遗传学复发风险的影响。MDR1-C1236T多态性的CC基因型携带的患者复发风险较高，而携带TT基因型的MDR1-C3435T多态性患者复发风险显着降低。虽然伊马替尼治疗是治疗CML的一线疗法，但是很多患者在长期随访期间细胞遗传学改善情况并不明显或者并未改善[16-17]。de Lavallade等[18]随访了一批新诊断为CML的患者，接受伊马替尼治疗5年，结果显示服用伊马替尼的患者维持主要细胞遗传学反应的5年可能性为62.7%。尽管继续采用伊马替尼治疗，但仍有1/3的患者发生细胞遗传学复发。鉴定激酶结构域中的突变是预测细胞遗传学复发的主要因素[19]。

在本研究中，50例细胞遗传性复发患者中，伊马替尼剂量的增加导致了部分患者达到CCyR。但是在某

表3 不同基因型对应的P-gp表达情况
Tab.3 P-gp expression in different genotypes

SNPs	P-gp (+)	P-gp (-)	χ^2	*P*
MDR1-C1236T			21.183	0.000
CC	70.77 (46/65)	29.23% (19/65)		
CT	40.91 (9/22)	59.09 (13/22)		
TT	7.14 (1/14)	92.86 (13/14)		
MDR1-C3435T			25.978	0.000
CC	57.14 (8/14)	42.86 (6/14)		
CT	43.75% (21/48)	56.25 (27/48)		
TT	0	100% (38/38)		
CYP3A5-A6986G			0.065	0.968
AA	15.38% (2/13)	69.23% (9/13)		
AG	19.51% (8/41)	80.49% (33/41)		
GG	17.39% (8/46)	82.61% (38/46)		
MDR1-G2677T/A			0.895	0.925
GG	30.00% (3/10)	70.00% (7/10)		
TA	14.29% (1/7)	85.71% (6/7)		
GA	33.33% (1/3)	66.67% (2/3)		
GG	28.57% (12/42)	71.43% (30/42)		
TA	31.58% (12/38)	68.42% (26/38)		

表4 C1236T和C3435T不同基因型患者细胞遗传学复发的风险
Tab.4 Risk of cytogenetic relapse in patients with different genotypes of C1236T and C3435T

SNPs	Genotype	Study group (*n*=50)	Control group (*n*=50)	χ^2	*P*	OR (95% CI)
MDR1-C1236T (rs1128503)						
	CC	11(78.57%)	3(21.43%)	5.316	0.021	4.419 (1.151, 16.967)
	CT+TT	39 (45.35%)	47 (54.65%)			
	TT	7 (33.33%)	14 (66.67%)	2.954	0.086	0.419 (0.153, 1.149)
	CC+CT	43 (54.44%)	36 (45.56%)			
MDR1-C3435T (rs1045642)						
	CC	11(73.33%)	4(26.67%)	3.843	0.049	3.244 (0.956, 11.001)
	CT+TT	39 (45.88%)	46 (54.12%)			
	TT	12 (31.58%)	26 (68.42%)	8.319	0.004	0.291 (0.124, 0.684)
	CC+CT	38 (61.29%)	24 (38.71%)			

些患者中，尽管伊马替尼的剂量增加，但不能重新达到CCyR，但是仍有部分患者的伊马替尼耐药突变分析报告可用。据报道，超过50%的伊马替尼耐药患者在激酶结构域中没有任何可检测的突变[20]，这些患者的抵抗机制尚不清楚。药代动力学改变和Pgp等转运蛋白的过表达等因素可能是这些患者抗药性的主要原因[20-21]。

与没有复发的患者相比，本研究中伊马替尼的谷值水平显着低于细胞遗传学复发患者。以前的研究报道，达到CCyR和MMR的患者血浆伊马替尼谷水平明显比未达到CCyR和MMR的患者高[22-23]。本研究与该

表5 Kaplan-Meier对无复发生存率的估计
Tab.5 Kaplan-Meier estimates of relapse-free survival in patients with different genotypes

SNPs	Genotype	Mean			Median			χ^2	*P*
		Estimate	Std. Error	95%CI	Estimate	Std. Error	95%CI		
MDR1-C1236T									
	CC	13.000	1.590	9.884~1.116	13.000	2.752	7.605~18.395	19.740	0.000
	CT	17.038	1.824	13.463~20.614	15.000	2.040	11.002~18.998		
	TT	32.462	4.239	24.153~40.770	41.000	9.648	22.091~59.909		
	Total	20.160	1.810	16.612~23.708	17.000	1.570	13.923~20.077		
MDR1-C3435T									
	CC	11.000	1.489	8.081~13.919	11.000	2.393	6.309~15.691	16.164	0.000
	CT	9.781	0.747	8.317~11.245	9.000	0.941	7.156~10.844		
	TT	26.143	4.718	16.896~35.390	25.000	6.547	12.169~37.831		
	Total	12.340	1.160	10.067~14.613	11.000	0.693	9.642~12.358		

表6 伊马替尼引起的血液毒性时间的发生情况比较
Tab.6 Comparison of the incidence of blood toxicity caused by imatinib between the two groups

Parameter	Study group (*n*=50)	Control group (*n*=50)	χ^2	*P*
Hematological toxicity	31 (60.78%)	20 (39.22%)	4.842	0.028
Hematological toxicity requiring dose interruption/ dose reduction	25 (59.52%)	17 (40.47%)	2.627	0.105
Pancytopenia	1 (50.00%)	1 (50.00%)	0	1.000
Thrombocytopenia	25 (54.35%)	21 (45.65%)	0.644	0.422
Thrombocytopenia requiring dose interruption	20 (57.14%)	15 (42.86%)	1.099	0.295
Thrombocytopenia requiring dose reduction	15 (68.18%)	7 (31.82%)	3.730	0.054
Neutropenia	17 (70.83%)	7 (29.17%)	5.482	0.019
Neutropenia requiring dose interruption	9 (56.25%)	7 (43.75%)	0.298	0.585
Neutropenia requiring dose reduction	8 (66.67%)	4 (33.33%)	1.515	0.218
Anemia	2 (66.67%)	1 (33.33%)	0.344	0.558

研究一致，另外本研究还观察到伊马替尼谷水平在不同个体间差异很大，分析显示造成这种差异的原因是CYP3A5和MDR1基因的遗传多态性。

CYP3A5基因编码微粒体酶、细胞色素P450-3A5，其在药物代谢和异种生物的处置中起关键作用[24]。CYP3A5基因的A6986G多态性是影响CYP3A5酶表达的最重要的SNP。携带GG基因型的个体与AA基因型相比，CYP3A5酶的表达降低至少0.1%[25]。因此，与GG基因型相比，具有AA基因型的患者可能具有低的伊马替尼血液水平，从而影响这些患者的治疗效果。然而，在本研究中，我们没有发现CYP3A5-A6986G多态性的不同基因型与细胞遗传学复发的风险之间存在任何关联。ABCB1或MDR1基因编码膜转运蛋白Pgp，其功能是一种外排泵，过度表达Pgp的肿瘤由于药物动力学改变和细胞内药物浓度的降低而对许多抗癌药物（包括伊马替尼）具有抗性[26]。关于MDR1基因的SNP的研究中，研究较多的SNP分别是C1236T、C3435T和G2677T/A。这些SNP在Pgp的表达中具有功能效应，并且是连锁不平衡的[27-28]。在本研究结果显示，MDR1基因中C1236T和C3435T多态性的不同基因型与细胞遗传学复发风险之间有统计学意义。与MDR1-C1236T位点的TT基因型携带者相比，具有CC基因型的患者具有较低的伊马替尼谷浓度水平（$P<0.05$），且具有更高的P-gp阳性表达率。MDR1-C3435T位点携带TT基因型的患者与CC基因型相比具有显着更高的伊马替尼谷浓度水平（$P<0.05$），其P-gp阳性表达率更低。

研究显示,C3435T多态性是通过改变mRNA稳定性影响mRNA水平的MDR1基因的主要功能多态性[29]。具有C3435T的CC基因型(野生型)的个体与具有TT基因型的那些相比,Pgp的表达高两倍。具有TT基因型的个体具有较低水平的肠Pgp,底物特异性降低和ABCB1 mRNA水平降低[30-31]。因此,从本研究中可以发现,该SNP患者TT基因型患者的细胞遗传学复发风险明显低于其他基因型患者。

MDR1和CYP3A5基因多态性对细胞遗传学复发风险的影响的报道较少,然而这些多态性对CCyR和MMR实现的影响已经有相关研究。CYP3A5-A6986G多态性AA基因型携带者很难达到CCyR[32]。Takahashi等[33]发现这种等位基因和剂量调整的伊马替尼谷浓度水平和临床反应之间并没有关联。也有研究显示,与CT和CC基因型相比,MDR1基因中C1236T SNP的TT基因型患者更容易达到MMR[34]。本研究中,MDR1基因中C1236T和C3435T多态性的CC基因型患者复发风险高于TT基因型。然而,本研究也有一定的局限性,首先本研究本身并不完全具有前瞻性,因此我们无法评估所有参与本研究的患者的分子反应。因此,有关MMR的资料仅适用于50名患者。此外,我们还没有对CYP3A4基因的SNP进行基因分型,因为这些SNP的次要等位基因的样本来源比较困难。 由于细胞遗传学复发的患者是伊马替尼的较高剂量,本研究中我们没有比较不同多态性对伊马替尼谷浓度的影响,尽管目前有研究者的观点认为MDR1 C1236T位点SNP不改变P-gp的氨基酸序列以及mRNA和蛋白表达水平,而MDR1 C3435T突变位于MDR1基因第26外显子,是一种同义突变,该SNP并不会引起蛋白表达量的显著变化,与本研究结果不一致。分析原因,一方面可能由于检测手段的差异导致所得到的结果存在一定的差异,另一方面可能由于地域差异导致不同的人群检测结果的差异。其次,本研究样本量有限,这也可能对于结果的客观性产生了一定的影响,还需要进一步研究评估这些多态性对伊马替尼谷浓度水平和治疗反应的影响。

综上所述,MDR1基因的C1236T和C3435T遗传多态性和伊马替尼的谷浓度水平显著影响CML患者细胞遗传学复发的风险。这些多态性的基因分型可应用于个体化CML的治疗。 MDR1-C3435T基因型可以作为预测CML患者细胞遗传学复发风险的潜在生物标志物加以应用。

参考文献:

[1] Mughal TI, Radich JP, Deininger MW, et al. Chronic myeloid leukemia: reminiscences and dreams[J]. Haematologica, 2016, 101(5): 541-58.

[2] Goldman JM. Chronic myeloid leukemia: a historical perspective[J]. Semin Hematol, 2010, 47(4): 302-11.

[3] Steegmann JL, Baccarani M, Breccia M, et al. European LeukemiaNet recommendations for the management and avoidance of adverse events of treatment in chronic myeloid leukaemia[J]. Leukemia, 2016, 30(8): 1648-71.

[4] Baccarani M, Castagnetti F, Gugliotta G, et al. A review of the European LeukemiaNet recommendations for the management of CML[J]. Ann Hematol, 2015, 94(Suppl 2): S141-7.

[5] Stagno F, Stella S, Spitaleri A, et al. Imatinib mesylate in chronic myeloid leukemia: frontline treatment and long-term outcomes[J]. Expert Rev Anticancer Ther, 2016, 16(3): 273-8.

[6] Castagnetti F, Gugliotta G, Breccia M, et al. Long-term outcome of chronic myeloid leukemia patients treated frontline with imatinib[J]. Leukemia, 2015, 29(9): 1823-31.

[7] Eechoute K, Sparreboom A, Burger H, et al. Drug transporters and imatinib treatment: implications for clinical practice[J]. Clin Cancer Res, 2011, 17(3): 406-15.

[8] Gambacorti-Passerini C, Kantarjian HM, Kim DW, et al. Long-term efficacy and safety of bosutinib in patients with advanced leukemia following resistance/intolerance to imatinib and other tyrosine kinase inhibitors[J]. Am J Hematol, 2015, 90(9): 755-68.

[9] le Coutre P, Kreuzer KA, Pursche S, et al. Pharmacokinetics and cellular uptake of imatinib and its main metabolite CGP74588[J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2004, 53(4): 313-23.

[10] Wolking S, Schaeffeler E, Lerche H, et al. Impact of genetic polymorphisms of ABCB1 (MDR1, P-Glycoprotein) on drug disposition and potential clinical implications: update of the literature[J]. Clin Pharmacokinet, 2015, 54(7): 709-35.

[11] Bouchet S, Titier K, Moore N, et al. Therapeutic drug monitoring of imatinib in chronic myeloid leukemia: experience from 1216 patients at a centralized laboratory[J]. Fundam Clin Pharmacol, 2013, 27(6): 690-7.

[12] 中华医学会血液学分会. 中国慢性髓性白血病诊断与治疗指南(2013年版)[J]. 实用器官移植电子杂志, 2013, 34(6): 321-8.

[13] Chen AP, Setser A, Anadkat MJ, et al. Grading dermatologic adverse events of Cancer treatments: the Common Terminology Criteria for Adverse Events Version 4.0[J]. J Am Acad Dermatol, 2012, 67(5): 1025-39.

[14] Seven M, Batar B, Unal S, et al. The drug-transporter gene MDR1 C3435T and G2677T/A polymorphisms and the risk of multidrug-resistant epilepsy in Turkish children[J]. Mol Biol Rep, 2014, 41(1): 331-6.

[15] Koh Y, Kim I, Shin DY, et al. Polymorphisms in genes that regulate cyclosporine metabolism affect cyclosporine blood levels and clinical outcomes in patients who receive allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2012, 18(1): 37-43.

[16] Kim D, Goh HG, Kim SH, et al. Comprehensive therapeutic outcomes of frontline imatinib mesylate in newly diagnosed chronic phase chronic myeloid leukemia patients in Korea: feasibility assessment of current ELN recommendation[J]. Int J Hematol, 2012, 96(1): 47-57.

[17] Hochhaus A, Saglio G, Hughes TP, et al. Long-term benefits and risks of frontline nilotinib vs imatinib for chronic myeloid leukemia in chronic phase: 5-year update of the randomized ENESTnd trial

[J]. Leukemia, 2016, 30(5): 1044-54.
[18] de Lavallade H, Apperley JF, Khorashad JS, et al. Imatinib for newly diagnosed patients with chronic myeloid leukemia: incidence of sustained responses in an intention-to-treat analysis[J]. J Clin Oncol, 2008, 26(20): 3358-63.
[19] Harivenkatesh N, Kumar L, Bakhshi S, et al. Do polymorphisms in MDR1 and CYP3A5 genes influence the risk of cytogenetic relapse in patients with chronic myeloid leukemia on imatinib therapy[J]. Leuk Lymphoma, 2017, 58(9): 1-9.
[20] Varallorodriguez C, Freyer CW, Ontiveros EP, et al. Bosutinib for the treatment of Philadelphia chromosome-positive leukemias[J]. Future Oncol, 2014, 10(2): 179-85.
[21] Gambacorti-Passerini CB, Gunby RH, Piazza R, et al. Molecular mechanisms of resistance to imatinib in Philadelphia-chromosome-positive leukaemias[J]. Lancet Oncol, 2003, 4(2): 75-85.
[22] Larson RA, Druker BJ, Guilhot F, et al. Imatinib pharmacokinetics and its correlation with response and safety in chronic-phase chronic myeloid leukemia: a subanalysis of the IRIS study[J]. Blood, 2008, 111(8): 4022-8.
[23] Guilhot F, Hughes TP, Cortes J, et al. Plasma exposure of imatinib and its correlation with clinical response in the Tyrosine Kinase Inhibitor Optimization and Selectivity Trial[J]. Haematologica, 2012, 97(5): 731-8.
[24] Williams JA, Ring BJ, Cantrell VE, et al. Comparative metabolic capabilities of CYP3A4, CYP3A5, and CYP3A7[J]. Drug Metab Dispos, 2002, 30(8): 883-91.
[25] Kuehl P, Zhang J, Lin Y, et al. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression[J]. Nat Genet, 2001, 27(4): 383-91.
[26] Hamidovic A, Hahn K, Kolesar J. Clinical significance of ABCB1 genotyping in oncology[J]. J Oncol Pharm Pract, 2010, 16(1): 39-44.
[27] Semenov AV, Sichev DA, Kukes VG. Effect of genes SLCO1B1 and MDR1 polymorphismon atorvastatin pharmacokinetics and pharmacodynamics in patientswith primary hypercholesterolemia: results of pilot pharmacogenetics study[J]. Ratio Pharm Cardi, 2008, 4(2): 47-50.
[28] Brinkmann U, Eichelbaum M. Polymorphisms in the ABC drug transporter gene MDR1[J]. Pharmacogenomics J, 2001, 1(1): 59-64.
[29] Jamroziak K, Młynarski W, Balcerczak E, et al. Functional C3435T polymorphism of MDR1 gene: an impact on genetic susceptibility and clinical outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. Eur J Haematol, 2004, 72(5): 314-21.
[30] Wang D, Johnson AD, Papp AC, et al. Multidrug resistance polypeptide 1 (MDR1, ABCB1) variant 3435C>T affects mRNA stability[J]. Pharmacogenet Genomics, 2005, 15(10): 693-704.
[31] Hodges LM, Markova SM, Chinn LW, et al. Very important pharmacogene summary: ABCB1 (MDR1, P-glycoprotein) [J]. Pharmacogenet Genomics, 2011, 21(3): 152-61.
[32] Ankathil R, Au A, Husin A, et al. P0172clinical relevance of a pharmacogenetic approach using multiple transporter genes to predict response and resistance to imatinib therapy in malaysian patients with chronic myeloid leukaemia[J]. Eur J Cancer, 2015, 51 (42): e33-e33.
[33] Takahashi N, Miura M, Scott SA, et al. Influence of CYP3A5 and drug transporter polymorphisms on imatinib trough concentration and clinical response among patients with chronic phase chronic myeloid leukemia[J]. J Hum Genet, 2010, 55(11): 731-7.
[34] Dulucq S, Bouchet S, Turcq B, et al. Multidrug resistance gene (MDR1) polymorphisms are associated with major molecular responses to standard-dose imatinib in chronic myeloid leukemia [J]. Blood, 2008, 112(5): 2024-7.